第 13 卷 第 6 期 昆 虫 学 报 Vol. 13, No. 6
1964 年 11 月 ACTA ENTOMOLOGICA SINICA Nov., 1964

蓖麻蚕在变态期間代謝作用的研究

III. 酸性磷酸一酯酶的性質及其活力在变态期的变化*

馮 慧**
（中国科学院动物研究所）

摘要 蓖麻蚕在变态期血淋巴酸性磷酸一酯酶活力随着蚕体的发育不断发生变化。在五龄起蚕，五龄四天及前蛹期酶活力較高，化蛹时显著降低，羽化前后又复升高。酶活力按血淋巴单位体积計算。雌雄两性差异不显著。但由于五龄中期以后，血淋巴蛋白質含量雌体大于雄体；故自五龄中期以后，酶的比活力雄体大于雌体。此酶在組織中的分布及其活力变化如下：在幼虫五龄盛食期消化道酶活力較高，其中尤以中腸酶活力最高。脂肪体和絲腺仅有微弱的酶活力。脂肪体酶活力在蛹期上升，羽化后达到最高点。此表明蓖麻蚕中腸在五龄盛食期具有旺盛的磷酸化及脫磷酸化作用，为代謝的活跃場所。在蛹及成虫体，消化道退化，脂肪体在代謝方面占了主要位置。昆虫血淋巴和其它动物血液不同的一个方面是它含有大量的磷酸酯类。影响血淋巴磷酸酯类的种类及其含量变化的，主要有两个因素：一是血淋巴本身对于不同的磷酸酯类的选择水解，蓖麻蚕在变态期血淋巴不同专一性磷酸酯酶的存在及其活力的变化，就是血淋巴选择水解的决定因素；另一是組織磷酸酯类对于血淋巴的选择分泌；本研究表明五龄幼虫中腸及脂肪体，尤其是蛹和成虫的脂肪体是血淋巴磷酸酯的重要来源。此外还研究了血淋巴磷酸一酯酶的性質，及某些金属离子，有机酸等对該酶活力的抑制及激活作用。

前 言

磷酸酯酶广泛存在于不同种类昆虫的器官和組織中(Day, 1949)。Rockstein 等(1951, 1953) 測定了六种昆虫磷酸酯酶，并指出此酶可能和昆虫种类、性别及抗葯性有关。日本作者(石原廉、須貝悅治，1957)研究了家蚕不同組織的磷酸酯酶，并解释此酶和絲蛋白的合成，糖类和磷酸物質的轉运及消化吸收之間的相互关系。Faulkner (1955) 研究了家蚕血淋巴的己糖-1-磷酸酯酶反应的条件。姚鑫等 (1956) 曾研究果蝇变态过程中磷酸酯酶的性質和变化，并且討論了这些变化和变态期磷代謝的关系。在家蝇和蜚蠊中磷酸酯酶活力和抗葯性关系亦有进一步报道 (Alexander 和 Barter, 1958)。Ashrafi 等(1961)研究了厩螫蝇在不同发育期的磷酸酯酶，将其变化和生长发育的机制相联系。Moog (1946, 1960) Roche (1951) 和 Schmidt (1961) 等曾对于磷酸酯酶的性質，以及在高等动物体正常或异常情况下的变化，在发育过程中的适应等問題进行了評論。他們曾指出血液磷酸酯酶的变化和骨組織的生长和破坏。肝和胆的疾病，代謝失調，化学葯剂的中毒等有关，并可以作为診断这些疾病的指标。因此研究正常情况下昆虫血淋巴磷酸酯酶可能有助于了解病理和毒理等机制，而且也对磷酸酯酶的比較生物化学提供資料。本工作的目的在于查明蓖麻蚕血淋巴酸性磷酸一酯酶的性質及其活力在变态期的变化，以及不同組

---

* 本文曾在 1963 年北京市昆虫学会学术討論会上宣讀。
** 工作期間承欽俊德先生提供宝貴意見并修改文稿；徐慕禹同志参加昆虫飼养及协助部分技术工作，特此致謝。
(本文于 1964 年 1 月 3 日收到)

織的酸性磷酸酯酶的活力差异，从而探索这些变化和蚕体代謝的相互关系。

材料与方法

实驗材料为室温中以蓖麻叶飼养的110号品种蓖麻蚕，蚕种系由广东省农业科学院供給。

酶的制备：(1)血淋巴的酶制品：收集血淋巴的方法同前(张清刚等，1963)。将血淋巴在3,500轉/分离心10分鈡后，将上清液保存于冰箱內。临用时以冰冷的蒸餾水稀释10倍作为血淋巴的酶制品。(2)組織的酶制品：将所需各发育期的蓖麻蚕体解剖后，以滤紙拭干組織并迅速称重；加入10倍的蒸餾水在玻璃匀浆器中制成匀浆。所有操作均在冷冻条件下进行。在3,500轉/分离心10分鈡。取上清液作为組織的酶制品。

酶活力的测定：除去特加注明者外，一般的操作如下。在10毫升离心管內加入：1毫升0.05M醋酸緩冲液(pH4.6)，0.25毫升0.05M葡萄糖-1-磷酸(G-1-P)作为底物，置于30℃恆温水浴中，然后加入0.5毫升酶制品，試样总体积为1.75毫升。保温15分鈡后，加入0.5毫升15%三氯醋酸。在3,500轉/分离心10分鈡除去蛋白質沉淀。将上清液按Rockstein和Herron(1951)改良的Sumner法测定无机磷酸，在同样条件下以煮沸过的酶液作为对照。在71型沪光牌分光光度計以650mμ比色。从試样和对照无机磷酸之差計算磷酸酯酶活力。各表和图所列酶活力系各批蚕三次以上重复的平均結果。

蛋白質浓度的测定：按Levin等(1951)的縮脲法测定。

酶活力的单位：血淋巴酶活力的单位按μ mole Pi/ml血淋巴/15分。組織的酶活力单位为μ mole Pi/g組織鮮重/15分。比活力为μg Pi/mg蛋白質(Pi指无机磷酸)。

結果与討論

(一) 血淋巴酸性磷酸一酯酶的性質

为了研究磷酸酯酶在昆虫代謝中的作用，尤其是血淋巴磷酸酯酶在正常或异常生理状态之間的相互关系，首先应了解血淋巴磷酸酯酶的某些基本性質。現在就蓖麻蚕血淋巴酸性磷酸一酯酶的性質进行了如下的研究。

1. pH对于血淋巴磷酸一酯酶活力的影响 磷酸酯酶的种类很多，在磷酸一酯酶中最常見的有两种：即碱性磷酸酯酶和酸性磷酸酯酶(Schmidt，1961)。为了了解蓖麻蚕血淋巴磷酸酯酶的性質，首先試驗了不同pH的溶液对于酶活力的影响。以不同pH的緩冲液調节pH。在pH 2.6至5.6的为0.05M的醋酸緩冲液，在pH 6.6至9.6的为0.05M的巴比妥緩冲液。以葡萄糖-1-磷酸鉀盐为底物。按照上述方法测定在不同pH溶液內血淋巴磷酸酯酶的活力。結果繪成图1。由图1可以看到，磷酸酯酶的活力随着溶液pH的改变

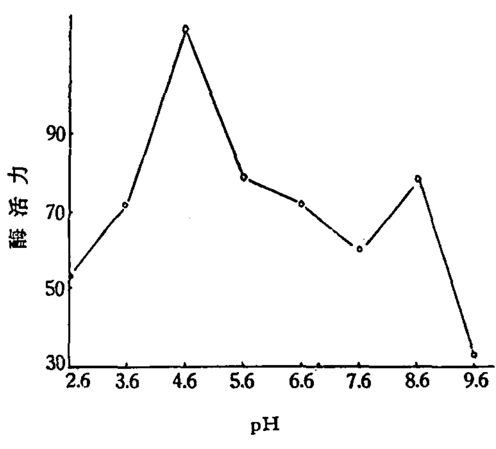


图1 酶活力和pH的关系

发生相应的变化。从 pH 2.6 开始，随着酸度的降低，酶活力提高甚快；至 pH 4.6 左右出現第一个峯，是酶活力最高的所在。之后随着 pH 的增加，酶活力下降，但較緩和。溶液 pH 呈碱性时，酶活力又逐漸上升，到 pH 8.6 左右呈現第二高峯。碱性再增加时，酶活力迅速下降。由此可見以 G-1-P 为底物时，蓖麻蚕血淋巴含有較強的酸性磷酸酯酶，最适 pH 在 4.6 左右，幷含有較弱的碱性磷酸酯酶，最适 pH 在 8.6 左右。Faulkner(1955) 用 G-1-P 作为底物，測得五龄家蚕血淋巴的已糖-1-磷酸酯酶的最适 pH 和我們的結果是一致的，而且所用底物亦相同。板桥宏子（1953）以苯基磷酸鈉作为底物，測得五龄家蚕血淋巴碱性磷酸酯酶的最适 pH 为 8.5 至 9，和这里碱性磷酸酯酶的 pH 一致。此外如石原廉（1957）以 β-甘油磷酸鈉作为底物，測得家蚕馬氏管有較強的酸性磷酸酯酶，最适 pH 在 4.5 左右；和較弱的碱性磷酸酯酶，最适 pH 在 9 左右。这也和本試驗的結果相近似。

2. 溫度对于酸性磷酸酯酶活力的影响　从上面的試驗得知蓖麻蚕血淋巴酸性磷酸酯酶活力較高。我們进一步試驗了溫度对于此酶活力的影响。取刚羽化的成虫血淋巴，測定了从 20℃ 至 65℃ 之間的六种不同溫度，保溫 30 分鈡后的酶活力。溫度和酶活力的关系以图 2 表示。由图 2 可以看到：在 20℃ 时酶活力較低，由 30℃ 至 35℃ 酶活力由 4.20 升至 9.68 μ mole Pi/ml 血淋巴/30 分，升高达一倍以上。最适溫度位于 30℃ 至 40℃ 之間，約为 37℃ 左右。溫度升至 50℃ 以上时，酶活力急速下降。在 65℃ 保溫 30 分鈡可使酶完全失活。Fitzgerald（1949）研究溫度对于蚱蜢发育卵碱性磷酸酯酶的影响，其最适溫度为 30—35℃。在 75℃ 时 5 分鈡則完全失去活力。最适溫度較蓖麻蚕的酸性磷酸酯酶稍低些，对热的稳定性則两者很接近。

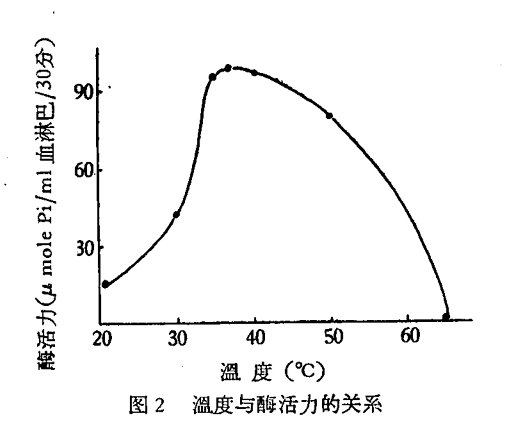


图 2　溫度与酶活力的关系

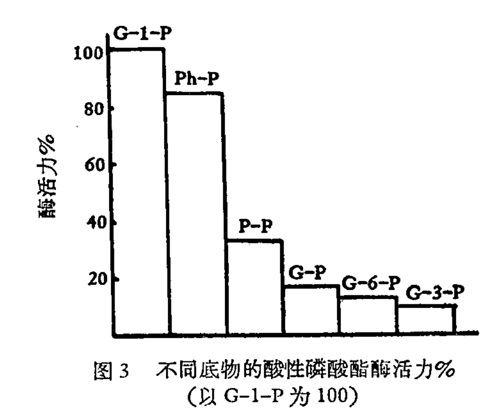


图 3　不同底物的酸性磷酸酯酶活力%
（以 G-1-P 为 100）

3. 血淋巴酸性磷酸酯酶的专一性　对于酸性磷酸酯酶的专一性进行了如下的試驗。选择数种和糖代謝有关的磷酸酯如 G-1-P，葡萄糖-6-磷酸（G-6-P），甘油酸-3-磷酸(G-3-P)，甘油磷酸鈉(G-P)等及一些人工合成的磷酸酯如焦磷酸鈉(P-P)，苯基磷酸二鈉(Ph-P)等作为底物，比較了不同底物对于酶活力的影响。以 G-1-P 作为底物时測得的酶活力作为 100，和用其他底物測得的酶活力相比所获得的数值，列于图 3。由图 3 可以看到以 G-1-P 为底物时酶活力最高。其他几种糖代謝有关的磷酸酯作为底物时，酶活力都較低。具芳基的苯基磷酸二鈉作为底物时，酶活力較高。相当于 G-1-P 的 84.48%。故只能認为此酶是属于相对的非专一性酸性磷酸酯酶。因此在測定酶活力时如不用 G-1-P，則以采

用苯基磷酸酯較为合适。若用甘油磷酸鈉則不合适，此时酶活力仅为用 G-1-P 时的 16.67%。

4. 底物浓度对于酸性磷酸酯酶活力的影响 以 G-1-P 作为底物，測定含 5 至 100m*M* 之間不同浓度的底物对于血淋巴磷酸酯酶活力的影响。将不同底物浓度下所測得的酶活力以图 4 表示。由此可以看到：当底物浓度很低时，底物浓度增加，酶活力增加很快。当底物浓度在 5m*M* 至 25m*M* 之間，則底物浓度增加时，酶活力的增加較慢；在 25—50m*M* 之間时，底物浓度增加时，酶活力增加很少；底物浓度超过 50m*M* 时，酶活力卽不再增加。

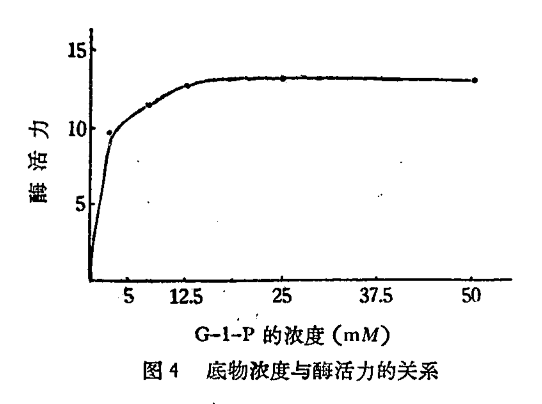


图 4 底物浓度与酶活力的关系

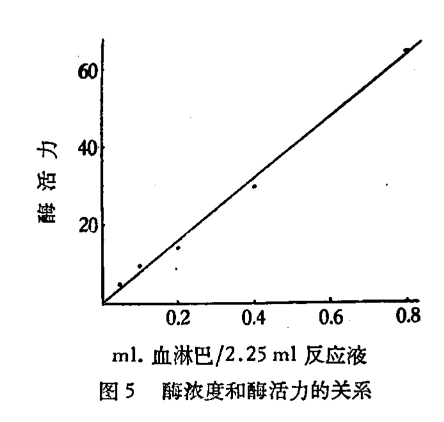


图 5 酶浓度和酶活力的关系

5. 酶浓度对于酸性磷酸酯酶活力的影响 将蓖麻蚕血淋巴酶制品作成不同浓度的酶溶液，以 G-1-P 作为底物，測定其酶活力，所得結果以图 5 表示。由此可以看到，酶浓度的增加和酶活力的增加是成直綫相关。卽在試驗的范围內酶浓度增加，酶活力也比例地增加。此种相关和 Faulkner (1955) 的己糖-1-磷酸酯酶浓度和酶活力的关系相类似。

(二) 一些試剂对于酸性磷酸酯酶活力的影响

試驗一些金属离子，有机酸等对于酸性磷酸酯酶活力的抑制或激活作用。将一定量的下列各試剂(表 1，第一行)在室温和血淋巴的酶制品預温 15 分鈡后，測定該酶活力。試驗結果列于表 1。

表 1 一些試剂对于酸性磷酸一酯酶活力的影响

試 剂	最終浓度(*M*)	激活%*	抑制%*	試 剂	最終浓度(*M*)	激活%*	抑制%*
$MgCl_2$	8.9×10^{-3}	38.2		2,4 二硝基酚	8.9×10^{-4}	0	0
$MnCl_2$	8.9×10^{-3}	19.6		秋水仙碱	4.4×10^{-4}	15.9	
$CoCl_2$	8.9×10^{-3}	0	0	秋水仙碱	2.2×10^{-3}		70.0
$FeCl_2$	8.9×10^{-3}	0	0	茴香酸	8.9×10^{-3}		85.7
$CdCl_2$	8.9×10^{-3}	0	0	檸檬酸	4.4×10^{-2}		80.0
$CuSO_4$	8.9×10^{-3}		70.5	草 酸	4.4×10^{-2}		100.0
$HgCl_2$	8.9×10^{-3}		86.4	苹果酸	4.4×10^{-2}		50.0
$AgNO_3$	8.9×10^{-3}		56.6	馬来酸	4.4×10^{-2}		100.0
NaF	8.9×10^{-3}		82.6	琥珀酸	4.4×10^{-2}		72.7
NaF	8.9×10^{-4}		58.6	丙二酸	4.4×10^{-2}		67.2
EDTA-Na†	8.9×10^{-3}	30.0					

* 以对照为 100。
† 乙二胺四乙酸二鈉。

由表 1 可以看到 Mg^{++} 及 Mn^{++} 离子对于該酶有激活作用，NaF 有抑制作用。这和一般磷酸酯酶的激活剂和抑制剂相类似(Schmidt, 1961)。Hg^{++}, Cu^{++} 及 Ag^{+} 等重金属离子有明显的抑制作用，可能是由于这些离子引起酶蛋白的变性而影响酶的活力。細胞分裂毒剂秋水仙碱在浓度很低($4.4\times10^{-4}M$)时有一些激活作用，而当浓度提高时 ($2.2\times10^{-3}M$)，却表現抑制作用。絡合剂 EDTA 鈉盐有激活作用。其他如 Fe^{++}, Co^{++}, Cd^{++} 及氧化磷酸化的解偶联剂 2,4-二硝基酚等对此酶活力均不发生影响。

一些有机酸如草酸、柠檬酸、馬来酸、琥珀酸、丙二酸、苹果酸等在适当浓度 ($4.4\times10^{-2}M$) 对于該酶活力表現明显的抑制作用。

(三) 血淋巴酸性磷酸酯酶活力在变态期的变化

为了研究血淋巴酸性磷酸一酯酶活力的变化和蚕体发育的关系，分别采取了不同发育期的幼虫(从四龄末开始)、蛹、成虫等不同时期的血淋巴做成酶制品，測定其酸性磷酸一酯酶活力，結果列于表 2 (I 項)。并以縮脲法(1951)測定了相应的血淋巴蛋白質含量(图 6)，由此計算酶的比

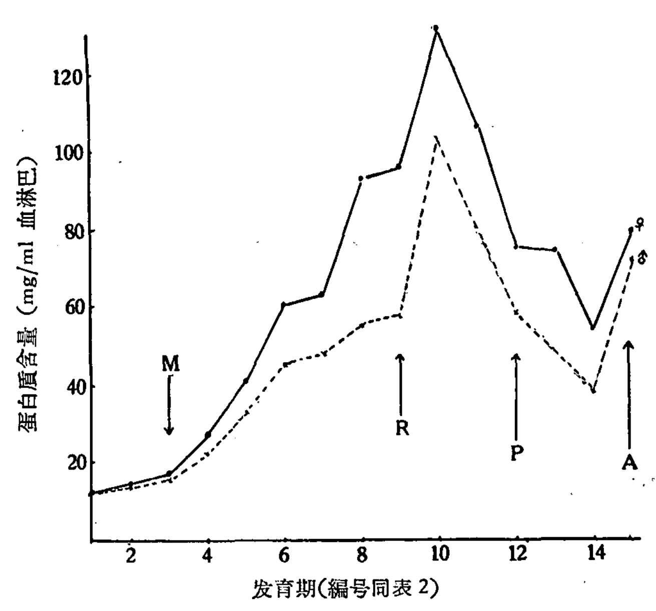


图 6　雌、雄蚕血淋巴蛋白質含量
M蛻皮　R吐絲　P化蛹　A羽化 (成虫数据是一批蚕两次測定的結果)

表 2　血淋巴酸性磷酸酯酶活力在变态期的变化

編　号	发 育 期	I. 酶 活 力 (μ mole Pi/ml 血淋巴)		II. 比 活 力 (μg Pi/mg 蛋白质)	
		♀	♂	♀	♂
1	四龄眠前	13.77	12.69	34.86	32.77
2	四 龄 眠	10.87	13.42	23.91	30.13
3	五龄起蚕	18.12	19.94	33.21	39.86
4	五龄二天	7.98	8.34	9.11	11.48
5	五龄三天	11.24	11.96	8.42	11.16
6	五龄四天	14.50	16.31	7.42	11.35
7	五龄五天	10.52	11.96	5.17	7.73
8	五龄六天	9.79	11.24	3.25	6.29
9	上 簇 前	9.06	9.79	2.93	5.30
10	吐 完 絲	13.05	11.24	3.07	3.37
11	前　蛹	18.12	17.04	5.28	6.57
12	刚 化 蛹	8.90	7.98	3.60	4.33
13	蛹 中 期	11.96	10.87	4.99	6.88
14	羽 化 前	12.69	12.69	7.51	10.30
15	成　虫	16.31	18.49	6.35	8.03

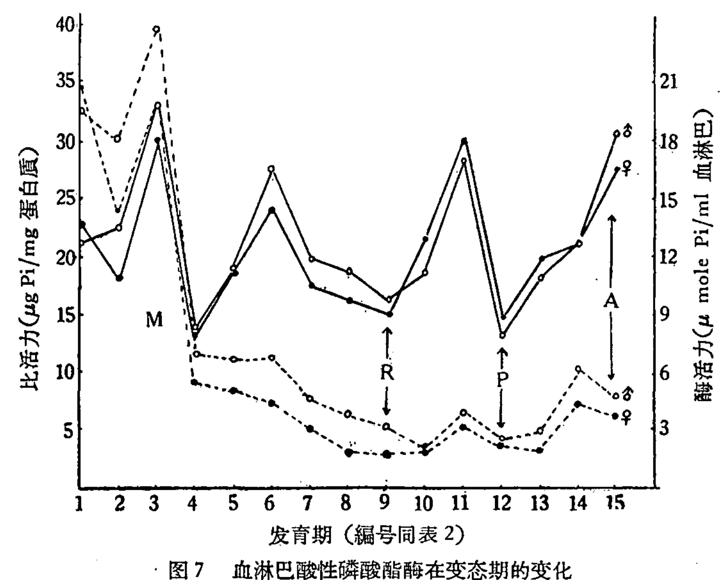


图 7 血淋巴酸性磷酸酯酶在变态期的变化
M蜕皮 R吐絲 P化蛹 A羽化 ——酶活力 ---比活力

活力，所得数据列于表 2 (II 項)。雌、雄蚕酶活力和比活力的相互关系以图 7 表示。

由图 7 可以看到（参考表 2, I 項），若酶活力按单位体积(毫升)血淋巴計算，在幼虫生长期中，以五龄起蚕为最高。雌、雄分别为 18.12 及 19.94 μ mole Pi/ml 血淋巴。进食后酶活力下降一半以上。以后逐漸上升，至五龄四天（盛食期）以后，酶活力才逐漸下降，至上簇前达到最低点，雌雄分别为 9.06 及 9.79 μ mole Pi/ml 血淋巴，随后逐漸回升，至前蛹期达另一高峯。刚化蛹时酶活力下降約一半，雌、雄分别为 8.90 及 7.98。此后逐漸上升，至成虫期(羽化后二天內)雌、雄分别为 16.31 及 18.49 μ mole Pi/ml 血淋巴。

板桥宏子(1953)曾測定家蚕五龄一天至上簇前血淋巴磷酸酯酶活力的变化，其結果和这里蓖麻蚕五龄取食期血淋巴磷酸酯酶活力变化相似。无論家蚕或蓖麻蚕的血淋巴酶活力都以五龄盛食期(五龄四天)較高，其他酶活力高峯如起蚕、前蛹及羽化前后等几个时期，正是組織分解及組織生成的旺盛时期，因而血液磷酸基的轉移和动用的速度相应增加。在这些时期血液磷酸酯酶活力的增加，是可能和生理上的需要相适应的。

由图 7 可以看出，血淋巴酸性磷酸酯酶活力按单位体积計算时，两性差异是不显著的(参考表 2, I 項)。但若按該酶的比活力(μg Pi/mg 蛋白质)計算时，除四龄眠前以外，雄体都高于雌体(見图 7 及表 2, II 項)。这是由于自五龄以后血淋巴蛋白质含量(見图 6)的两性差异逐漸显著，雌体高于雄体。自五龄起蚕以后，血淋巴蛋白质含量随蚕体发育逐漸增加，至吐絲前后达最高点。相应的是酶的比活力随蚕体发育而降低，至吐絲前后达最低点。此后由于血淋巴蛋白质含量下降，比活力又相对上升。

（四）酸性磷酸酯酶在不同組織中的活力

取五龄四天的幼虫、第 7—8 天的蛹和 2 天內成虫的組織，解剖后做成勻浆，然后在 3,500 轉/分 离心 10 分鈡。取上清液测定酸性磷酸酯酶活力。其結果列于表 3。

由表 3 可以看到：在幼虫盛食期(五龄四天)，中腸的酸性磷酸酯酶活力最高，其次是血淋巴，脂肪体和絲腺仅有微弱的酶活力。到蛹化后脂肪体的酶活力提高和血淋巴的酶活力接近。羽化以后，脂肪体的酶活力超过血淋巴。

将消化道的前、中、后腸进行比較(图 8)，可以看到：中腸的酶活力最高，在雄体中約为血淋巴的三倍；后腸最低，和血淋巴的酶活力相接近。須貝悅治(1957)研究五龄家蚕的消化道，指出碱性磷酸酯酶活力在中腸最高。Ito (1958) 在对于五龄家蚕中腸氧化酶类的

表 3　蓖麻蚕不同組織內酸性磷酸酯酶活力*

組　織	单　位	幼虫(五龄四天)		蛹(7—8 天)		成虫(2 天內)	
		♀	♂	♀	♂	♀	♂
血淋巴	μ mole Pi/ml	14.50	16.31	11.96	10.87	16.31	18.49
脂肪体	μ mole Pi/g 鮮重	7.25	5.08	13.05	8.37	30.03	27.19
消化道 前腸	μ mole Pi/g 鮮重	11.24	17.76				
消化道 中腸	μ mole Pi/g 鮮重	23.21	30.05				
消化道 后腸	μ mole Pi/g 鮮重	7.61	10.87				
絲　腺	μ mole Pi/g 鮮重	1.38	7.98				

* 前腸、后腸为两次測定的結果，其他数据是至少三次，或三次以上重复測定的平均結果。

研究中，証明中腸具有較高浓度的三羧酸循环及細胞色素体系的酶类。最近 Sridhara 和 Bhat (1963) 对于家蚕不同組織的磷酸酯酶活力（以 β-甘油磷酸酯为底物）的研究表明，碱性及酸性磷酸酯酶都以消化道为最高。此外在我們（张淸刚等，1964）对于海藻糖酶的研究中，得知在蓖麻蚕幼虫五龄时，中腸海藻糖酶活力也是在組織中最高的所在。以上这些結果表明，可能中腸在五龄幼虫的代謝中占有重要地位。

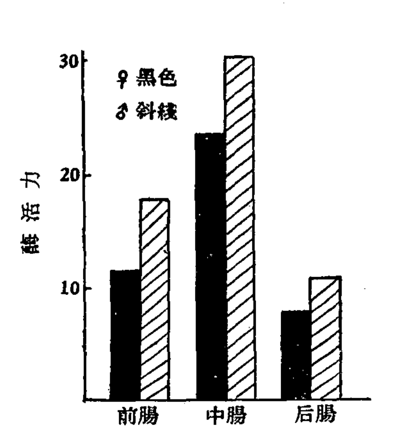


图 8　幼虫消化道的酶活力比較

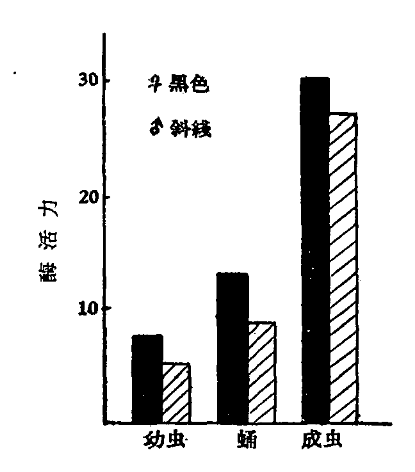


图 9　幼虫、蛹、成虫雌雄脂肪体酶活力的比較

将幼虫、蛹、成虫的脂肪体磷酸酯酶活力进行比較（图 9 及表 3）。可以看到，酶活力以成虫最高，蛹次之，幼虫最低，而且雌体酶活力均高于雄体。幼虫脂肪体的酶活力較低，可能是因为該时消化道，尤其是中腸是磷代謝的活跃場所。至蛹及成虫期，由于消化道退化，脂肪体在磷代謝方面起了主导作用，并且是血淋巴磷酸酯类的重要来源。这和 Wyatt, Carey 等 (1963) 对于天蚕蛾蛹的磷酸化合物研究的結果是相符的。

結　束　語

昆虫血淋巴和其他动物血液不同的一个方面是它含有大量的磷酸酯类。从不同昆虫血淋巴的分析結果表明，总磷含量約在 20—80 mM 范围內 (Wyatt, 1961)。其中大部分是酸溶性磷，而以有机磷酸酯为主。这些磷酸化合物主要溶于血浆而运行于全身。由于在

代謝中磷酸衍生物的普遍存在,了解血液磷酸酯酶的性质,活力变化及和組織磷酸酯酶的相互关系等是进一步掌握昆虫代謝机制的重要环节。Wyatt 等(1959,1963)用 P^{32} 曾証明昆虫血淋巴磷酸酯类不断地进行代謝更新,其速度随不同发育期而有变化。如天蚕蛾蛹,于滞育期磷的轉换速度較慢,到羽化过程中速度轉快。他們指出影响血液磷酸酯类的种类及其含量变化的,可能主要有两个因素:其一是血淋巴本身对于不同的磷酸酯类的选择水解;另一是組織磷酸酯类对于血淋巴的选择分泌。但是他們沒有討論其基本原因。从我們实驗結果中可以看到,蓖麻蚕在变态期血淋巴不同专一性磷酸酯酶的存在及其活力的变化,就是血淋巴选择水解的决定因素。

至于組織的选择分泌方面,我們可以这样来看:从本工作对于蓖麻蚕在变态期不同組織磷酸酯酶活力变化的研究中,表明五龄幼虫的消化道及脂肪体,尤其是蛹和成虫的脂肪体可能是血淋巴磷酸酯的重要来源。在本工作进行完毕后,作者看到 Carey 和 Wyatt (1963)的工作。他們仅分析了天蚕蛾蛹的組織磷酸酯类,其推論和我們有相同之处,即供給血液磷酸酯的重要場所可能是脂肪体。在我們的工作中还指出消化道,尤其是中腸,对于五龄盛食期的磷酸酯类的代謝轉化方面,似乎也占重要地位。

参 考 文 献

张滂刚、刘芳、馮慧 1964。蓖麻蚕在变态期間代謝作用的研究 II. 海藻糖酶的性质及其在糖代謝中的作用。昆虫学报 **13** (4): 494—502。

张滂刚、刘芳、馮慧 1963。蓖麻蚕在变态期間代謝作用的研究 I. 蛹化前后脂肪体和血淋巴主要成分的变化。昆虫学报 **12** (4): 412—22。

姚鑫、郑竺英 1956。果蝇变态过程中磷酸酶的性质和变化。实驗生物学报 **5** (1): 123—36。

Alexander, B. H., *et al.* 1958. The phosphatase activity of susceptible and resistant house flies and German cockroaches. *J. Econ. Ent.* **51**:211—3.

Ashrafi, S. H., F. W. Fisk 1961. *Pakistan J. Sci. Ind. Research* **4**(2):70—2. Cited from *Chem. Abst.*, 1962, **56**(5), 5237.

Barker, R. J., B. H. Alexander 1958. Acid alkaline phosphatases in house flies of different ages. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* **51**:255—7.

Carey, F. G., G. R. Wyatt 1963. Phosphate compounds in tissues of the Cecropia silkmoth during diapause and development. *J. Insect. Physiol.* **9**:317—35.

Day, M. F. 1949. The distribution of alkaline phosphatase in insects. *Aust. J. Sci. Res.* Ser. B. Biol. Sci. **2**(1):31—41.

Faulkner, P. 1955. A hexose-l phosphatase in silkworm blood. *Biochem. J.* **60**:590—6.

Fitzgerald, L. R. 1949. The alkaline phosphatase of the developing grasshopper egg. *J. Exptl. Zool.* **110**: 461—88.

Ishihara, R. (石原廉) 1957. Studies on the Malpighian tubules. 日本蚕絲学杂志 **26**(2):24—6.

Ito, T., *et al.* 1958. Oxidative enzymes of the mid-gut of the silkworm *Bombyx mori. J. Insect Physiol.* **2**:313—23.

Levin, R., R. W. Brauer 1951. The biuret reaction for the determination of proteins—an improved reagent and its application. *J. Lab. Clin. Med.* **38**:474.

Moog, F. 1946. The physiological significance of the phosphomonoesterases. *Biol. Rev.* **21**:41—59.

Moog, F. 1959. The adaptations of alkaline and acid phosphatases in development pp. 121—155. In the "Cell, Organism and Milieu", Ed. by Rudnick, D., The Ronald Press Co.

Roche, J. 1951. Phosphatases. In "The Enzymes" vol. **1**, pt. 1, pp. 474—510, Ed. by Sumner and Myrbäck. Academic Press.

Rockstein, M., P. W. Herron 1951. Colorimetric determination of inorganic phosphate in microgram quantities. *Ind. Eng. Chem. Analytical ed.* **23**:1500—1.

Rockstein, M., L. Levine 1951. Enzymes in insects: acid phosphatase. *Ann. Ent. Soc. Amer.* **44**:469—72.

Rockstein, M., M. D. Inashima 1953. Enzymes in insects: alkaline phosphatase. *Bull. Brooklyn Ent. Soc.* **48**:20—3.

Schmidt, G. 1961. Nonspecific acid phosphomonoesterases. In "The Enzymes" vol. 5, 37—47, 2nd. ed., Ed. by Boyer, Academic Press.
Sridhara, S., J. V. Bhat 1963. Alkaline and acid phosphatases of the silkworm, *Bombyx mori* L. *J. Insect. Physiol.* 9:693—701.
Sugai, E. (須貝悦治) 1957. Alkaline phosphatase in the mid-gut of the silkworm larva, *Bombyx mori*. 日本蚕絲学杂志 26(2):39.
Wyatt, G. R. 1961. The biochemistry of insect hemolymph. *Ann. Rev. Entomol.* 6:75—102.
Wyatt, G. R., *et al.* 1963. The chemistry of insect hemolymph IV. Acid-soluble phosphates. *J. Insect Physiol.* 9:137—52.
Wyatt, G. R. 1959. Phosphorus compounds in insect development. *Proc. 4th int. Congr. Biochem.* 12:167—72.

STUDIES ON METABOLISM OF ERI-SILKWORM DURING METAMORPHOSIS

III. THE PROPERTIES OF ACID PHOSPHOMONOESTERASE AND THE CHANGE OF ITS ACTIVITY DURING METAMORPHOSIS

FENG HUI
(Institute of Zoology, Academia Sinica)

During metamorphosis the activity of the hemolymph phosphomonoesterase of Eri-silkworm changes in a regular pattern according to the developmental stages. In the beginning of the last larval instar, on the fourth day of the fifth instar and in the pre-pupal stage the enzymic activity is the highest; it decreases sharply just after pupation and increases again before and after emergence. The enzymic activity calculated per unit volume of hemolymph shows no significant difference between the sexes. However, from the middle of the fifth instar, the enzymic activity calculated per unit weight of protein of the males is always higher than that of the females. The distribution and change of activities of this enzyme between different tissues are as follows: In the middle of the fifth instar larvae, the enzyme activity in the digestive tract is higher than those of other parts of the body, that of the mid-gut being the highest. The lowest values of enzymic activity was found in the fat bodies and silk glands. The enzyme activity in the fat bodies increased in the pupal stage, reached the highest level after emergence. These facts indicate that in the middle of fifth larval instar the mid-gut, where active phosphorylation and dephosphorylation are carried out, is the active site of metabolism and that in the pupa and adult stages when the digestive tract degenerates, the fat bodies play an important role in metabolism. The hemolymph of insects differs from the blood of other animals by a high content of phosphates. The types and the amounts of phosphates in the hemolymph are found to be influenced by the selective hydrolysis in the hemolymph and the selective secretion from the cells, in agreement with the view expressed by Wyatt (1963). During metamorphosis the selective hydrolysis is effected by the presence and changes of activities of the phosphatases with different specificities. The present study further indicates that the mid-gut and the fat bodies of the fifth instar larvae and the fat bodies of the pupae and adult are the main sources of hemolymph phosphates. The properties of hemolymph acid phosphomonoesterase and the inhibition and activation of enzymic activities by some metal ions, organic acids, etc., have also been studied.